

Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. G. G. Wendt

ÜBER DEN EINFLUSS VERSCHIEDENER
STRESSBEDINGUNGEN AUF DIE
MONOAMINOXYDASEAKTIVITÄT IN EINIGEN
ORGANEN DER RATTE

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

KARL FELDMANN
aus Schrobenuhausen

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. G. G. Wendt

ÜBER DEN EINFLUSS VERSCHIEDENER
STRESSBEDINGUNGEN AUF DIE
MONOAMINOOXYDASEAKTIVITÄT IN EINIGEN
ORGANEN DER RATTE

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

KARL FELDMANN

aus Schrobenausen

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der

Universität Marburg am 21. November 1975

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. H. Oepen

Correferent: Prof. Dr. H. Bernhardt

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung	1
B. Material und Methodik	2
1. Versuchstiere	2
2. Durchführung der Sektion	2
3. Organe	2
4. Versuchsdurchführung	3
a) Prinzip der MAO-Aktivitätsbestimmung	3
b) Substanzen und Reagenzien	3
c) Bestimmung der MAO-Aktivität	3
5. Versuchsanordnung für die Stressversuche	5
a) Dauerdunkel	5
b) Dauerlicht	6
c) Wärme	6
d) Kälte	6
e) Schwimmen	6
f) Immobilisation	7
C. Ergebnisse	8
1. Ergebnisse der Dauerdunkelversuche	8
a) 5 Tage Dauerdunkel	8
b) 10 Tage Dauerdunkel	12
2. Ergebnisse der Dauerlichtversuche	15
a) 5 Tage Dauerlicht	15
b) 10 Tage Dauerlicht	19
3. Ergebnisse der Wärmeversuche	23
4. Ergebnisse der Kälteversuche	26
5. Ergebnisse der Schwimmversuche	30
6. Ergebnisse der Immobilisationsversuche	36
D. Diskussion	39
1. Versuchsbedingungen und Methodik	39
2. Adaption an den Stress	39
3. Unterschiedliche Stressarten	40
4. Beeinflussung der MAO-Aktivität durch Stressfaktoren	41
E. Zusammenfassung	44
F. Literaturverzeichnis	45

A. Einleitung

Stress ist die Antwort des Organismus auf jede psychophysische Belastung als Ausdruck einer unspezifischen Grundreaktion (SELYE). Es sind viele Wirkungen von Stressarten auf den Organismus untersucht worden, jedoch finden sich in der Literatur keine oder nur sehr wenige Angaben über den Zusammenhang von Stress und MAO-Aktivität in den verschiedenen Organen.

LADISICH, BARCHAS und FREEDMAN (1963) sowie THIERRY et al. (1968) fanden in verschiedenen Regionen des Rattengehirns einen Anstieg des Serotoninsatzes bei physischer Erschöpfung und Pfoten elektrisierend. Für unsere Untersuchungen wählten wir technisch relativ einfach durchführbare Stressarten wie Dauerlicht und Dauerdunkel, Hitze, Kälte, Schwimmen und totale Immobilisation.

Diese Arbeit soll einen ersten Überblick geben über den Einfluß verschiedener Stressarten auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Organen der Ratte.

B. Material und Methodik

1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden 42 ausschließlich männliche Ratten vom Stamm WISTAR AF/Han verwendet. Die Tiere wurden vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover bezogen. Das Alter der Ratten betrug 10-15 Wochen. Sie erhielten die Standarddiät Altromin (Fa. Altrogge, Lage/Lippe).

2. Durchführung der Sektion

Die Tiere wurden immer zur gleichen Tageszeit (gegen 12 Uhr) seziiert. vorher wurden sie mit Äther betäubt^x, dekapitiert und gut ausgeblutet. Nachdem sie von Blut und Fett befreit waren, erfolgte die Präparation der Organe.

3. Organe

Es wurden folgende Organe entnommen (in Klammern die durchschnittlichen Organgewichte mit Standardabweichungen):

1. Gehirn (1,85 g; n = $\pm 0,08$)
2. Lunge (1,1 g; n = $\pm 0,20$)
3. Herz (0,7 g; n = $\pm 0,07$)
4. Leber (9,1 g; n = $\pm 1,32$)
5. Nieren (1,6 g; n = $\pm 0,15$)
6. Milz (0,6 g; n = $\pm 0,13$)
7. Hoden (3,0 g; n = $\pm 0,24$)

Nach der Sektion erfolgte die sofortige weiterverarbeitung aller Organe.

^xDie Äthernarkose hat keinen Einfluß auf die MAO-Aktivität, wie durch Parallelversuche mit Genickschlag gezeigt werden konnte (SCHNEIDER, pers. Mitteilung).

4. Versuchsdurchführung

a) Prinzip der MAO-Aktivitätsbestimmung

Die hier angewandte Methode nach POPOV und Mitarbeitern (1971) erlaubt eine relativ genaue Messung der Monoaminoxidaseaktivität. Bei der Enzymkatalyse wird aus biogenen Aminen durch oxydative Desaminierung der jeweilige Aldehyd gebildet. Die instabilen Aldehyde werden an Semicarbazid gekoppelt und bilden mit diesem einen stabilen Aldehydsemicarbazonkomplex. Dieser ist ein verlässliches Maß für die MAO-Aktivität.

b) Substanzen und Reagenzien

0,25 m Rohrzuckerlösung

Natriumphosphatpuffer nach Sørensen (pH = 7,8)

Tyramin, gelöst in Aqua dest. (6 μ mol/l)

Semicarbazidhydrochlorid, gelöst in Aqua dest.

(eingestellter pH = 7,8), (25 μ mol/l)

0,6 n Perchlorsäure

Aqua dest.

c) Bestimmung der MAO-Aktivität

Die entnommenen Organe wurden von Blut und anhängendem Fettgewebe befreit, abgewogen und mit dem Messer grob zerkleinert. Nach Zusatz von 3 Teilen 0,25 m gekühlter Rohrzuckerlösung zu 1 Teil Organ wurde das Gemisch 5 Minuten lang mit einem Glashomogenisator nach POTTER-ELVEJHEM homogenisiert.

Es wurden dann zwei Versuchsreihen gestartet.
In der ersten Versuchsreihe standen für jedes Organ 6 Polypropylen-Zentrifugengläser bereit. Diese wurden mit je 2,8 ml Tyraminsubstratlösung aus einer automatischen Pipette beschickt.
In der Substratlösung waren enthalten:

- 1,5 ml Natriumphosphatpuffer nach Sörensen (pH=7,8)
- 0,3 ml Aqua dest.
- 0,5 ml Tyraminsubstrat
- 0,5 ml Semicarbazidhydrochlorid

Daraufhin wurde in jedes Röhrchen 0,2 ml Organ-homogenat pro 2,8 ml Substratlösung pipettiert. Das 1. Röhrchen der 6 Proben diente als Leerwert. Sein Inhalt wurde mit 1 ml Perchlorsäure (0,6 n) enteiweißt. Anschließend erfolgte eine zwanzig-minütige Inkubation aller Proben im Wasserbad bei 37°C. Nach dieser Inkubation wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 ml Perchlorsäure (0,6 n) gestoppt, ausgenommen die des Leerwerts. Daraufhin wurden alle Röhrchen in der Ultrazentrifuge 15 Minuten lang bei 100 000 xg zentrifugiert. Die Messung der Proben gegen den entsprechenden Leerwert erfolgte im Spektralphotometer. (PMQ II, Fa. Zeiss, Oberkochen) bei 235 nm.

Die zweite Versuchsreihe wurde 10 Minuten nach Beginn der ersten Reihe gestartet und in gleicher Weise durchgeführt.

Anfangs bewarnten wir alle homogenisierten Organe bei Zimmertemperatur auf. Da sich bei dem Leber-

homogenat in der zweiten Versuchsreihe eine Erhöhung der MAO-Aktivität herausstellte, wurde das Leberhomogenat nach den Hell-Dunkel-Versuchen bei 0°C gehalten (siehe Seite 23). Die Extinktionswerte der zweiten Reihe der ungekühlten Leber wurden nicht berücksichtigt.

5. Versuchsanordnung für die Stressversuche

a) Dauerdunkel

Ein Pappkarton wurde lichtdicht verschlossen. In diesem befanden sich die Tiere in einem Käfig^x mit ausreichend Wasser und Futter. Zur Gewährleistung der Sauerstoffversorgung wurden zwei lichtdichte Luftschleusen und ein Wasserstrahlpumpenanschluß angebracht. Eine Heizung mit angeschlossenem Kontaktthermometer hielt die Temperatur konstant auf 28°C. Diese Temperatur wurde gewählt, um mit gleichen Versuchsbedingungen wie bei den Dauerlichtversuchen zu arbeiten, bei denen durch die Wärmeentwicklung der Glühlampen keine tiefere Temperatur als 28°C erreicht wurde.

In einer ersten Versuchsreihe waren 5 Tiere 5 Tage und Nächte, in der zweiten Versuchsreihe 5 Tiere 10 Tage und Nächte lang absoluter Dunkelheit ausgesetzt. Die Tiere wurden immer mittags um 12 Uhr in die Käfige gesetzt und nach 5 bzw. 10 Tagen ebenfalls mittags um 12 Uhr aus den Käfigen genommen. Sie wurden sofort getötet und die Organe untersucht.

^x Makrolonkäfig der Fa. Parg-Presswerk (Maße: 21x40x14 cm)

b) Dauerlicht

Die Ratten wurden in einer Dunkelkammer in ihren lichtdurchlässigen Käfigen (siehe Fußnote S.5) gehalten. Drei Glühbirnen von je 100 Watt im Abstand von ca. 20 cm zur Käfigmitte beleuchteten die Tiere Tag und Nacht. Durch einen Ventilator konnte die Temperatur in den Käfigen auf 28°C gehalten werden (siehe oben).

In einer ersten Versuchsreihe setzten wir 5 Tiere 5 Tage und Nächte, in der zweiten Reihe 5 Tiere 10 Tage und Nächte lang dem Dauerlicht aus. Beginn und Abschluß des Versuchs wurden genauso gehandhabt wie bei den Dunkelversuchen.

c) Wärme

Hierzu wurde der Käfig in einen Brutschrank gestellt. Die Temperatur im Käfig betrug 40°C. Es wurde jeweils ein Tier 1, 2, 3, 4 oder 5 Stunden der Wärme ausgesetzt und anschließend sofort getötet.

d) Kälte

Es wurde immer ein Tier in seinem Käfig in den Kühlschrank gestellt. Dort betrug die Temperatur +5°C. Der Versuch dauerte bei jeweils einem Tier 16, 18, 20, 21 oder 25 Stunden.

e) Schwimmen

Bei diesen Versuchen ließen wir jeweils ein Tier in einem 70x40 cm großen Becken schwimmen, dessen Wassertemperatur 35°C betrug. Durch die Beschaffenheit des Beckens war die Ratte gezwungen, die ganze Versuchsdauer über zu schwimmen. 3 Tiere ließen wir eine Stunde lang schwimmen und töteten

sie anschließend sofort. An 4 Tieren wurden 50 g Ballast befestigt, was ungefähr $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{6}$ ihres Körpergewichts ausmachte. 2 von diesen Tieren schwammen 30 Minuten, die anderen 2 Tiere 15 Minuten.

f) Immobilisation

Hierzu wurden die Tiere mit Äther betäubt, dann mit synthetischer Watte umwickelt, um genügend Raum für die Atembewegungen zu lassen und danach mit einer Gipsbinde rundum fixiert (Biplatrix, Beiersdorf, 10 x 100 cm). Die untersuchten 5 Tiere waren jeweils 24 Stunden eingegipst (LORENZ, REIMAN u. a.).

C. Ergebnisse

Als Kontrollwert für alle Versuche diente und der Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Tieren.

Folgende Extinktionen wurden gemessen:

Gehirn ($0,30 \pm 0,03$), Lunge ($0,18 \pm 0,05$), Herz ($1,09 \pm 0,16$), Leber ($0,53 \pm 0,13$), Nieren ($0,42 \pm 0,04$), Milz ($0,10 \pm 0,05$) und Hoden ($0,10 \pm 0,04$).

Die Kontrollwerte erscheinen in den Abbildungen immer als schraffierte Säulen.

1. Ergebnisse der Dauerdunkelversuche

a) 5 Tage Dauerdunkel

Gewichtszunahme der Tiere während des Versuchs:

Tier 1: +41,6 g

Tier 2: +11,6 g

Tier 3: +16,6 g

Tier 4: +13,0 g

Tier 5: +19,5 g

Das ergibt eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 20,4 g.

Abb.1 zeigt die Einzelwerte der 5 Tiere. Es fällt auf, daß besonders in Herz, Lunge und Leber z.T. sehr große interindividuelle Aktivitätsunterschiede auftreten. Analoge individuelle Differenzen machen sich auch in den großen Differenzen der Gewichtszunahme bemerkbar. So ist bei Tier 2 im Herzen, in der Leber und in der Lunge die MAO-Aktivität von allen Tieren am größten, während Tier 1 und 3 in Leber, Herz und Lunge relativ geringe Aktivitäten aufweisen. Bemerkenswert ist die große Konstanz in den Einzelwerten der Gehirne mit sehr geringen Aktivitätsabweichungen gegenüber den Kontrolltieren.

In Abb.2 sind die Mittelwerte der 5 Tiere (mit Standardabweichungen) zusammengefaßt. Hier ergibt sich eine signifikante Verminderung der MAO-Aktivität im Herzen um 56 %. Bei allen anderen Organen zeigt sich zwar eine geringere MAO-Aktivität als bei den Kontrolltieren, doch ist sie nicht signifikant. Die Werte der Leber sind von $0,53 \pm 0,13$ auf $0,36 \pm 0,09$ (32 %), der Lunge von $0,18 \pm 0,05$ auf $0,13 \pm 0,05$ (28 %) und der Nieren von $0,42 \pm 0,04$ auf $0,37 \pm 0,07$ (12 %) gesunken. Die geringste Veränderung ist, wie schon aus Abb.1 hervorgeht, im Gehirn zu finden: seine Werte sanken nur von $0,30 \pm 0,03$ auf $0,28 \pm 0,04$, was 7 % MAO-Aktivitätsabnahme ausmacht. Schon hier scheint sich zu zeigen, daß das Gehirn der Tiere am schwersten zu beeinflussen ist.

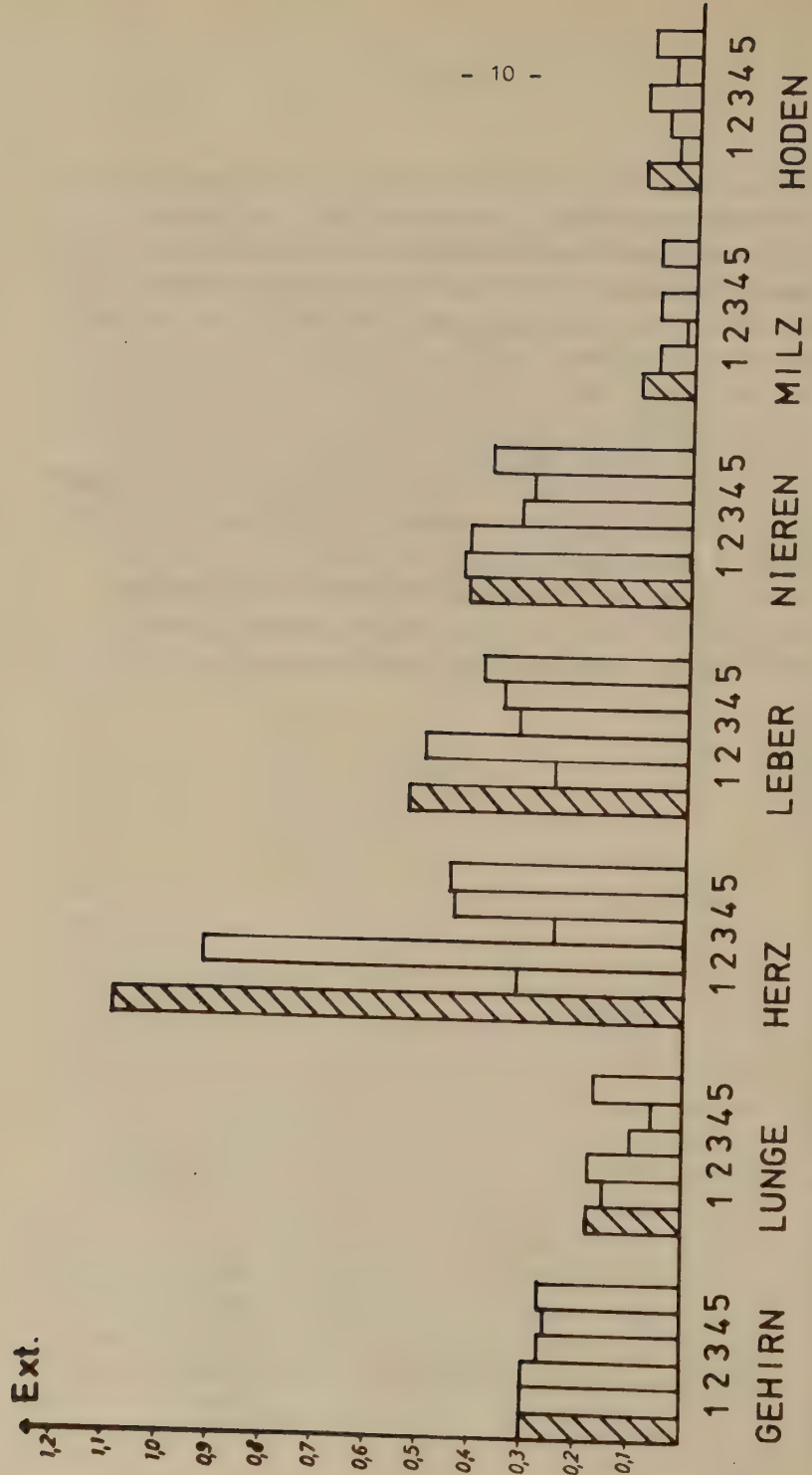


Abb. 1: Wirkung von 5 Tagen Dauerdunkel auf die IAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren (Säulen 1-5; schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

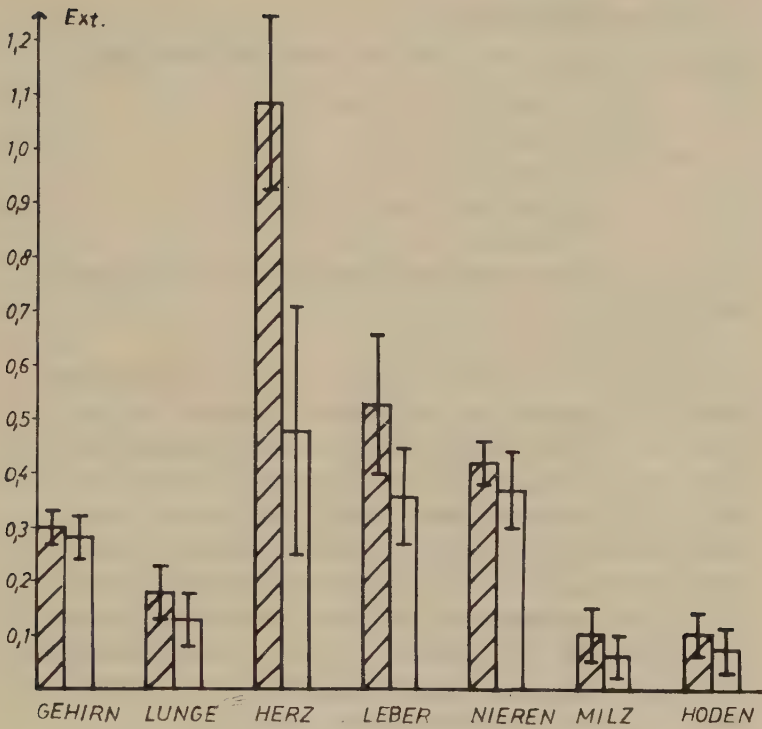


Abb.2: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.1

b) 10 Tage Dauerdunkel

Gewichtszunahme der Tiere während des Versuchs:

Tier 1: + 3,5 g

Tier 2: +12,0 g

Tier 3: +12,5 g

Tier 4: + 4,9 g

Tier 5: +37,9 g

Das ergibt eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 14,2 g.

Zeigte schon der erste Versuch (5 Tage Dauerdunkel) große Differenzen in der Gewichtszunahme, so sind hier bei 10 Tagen Dauerdunkel die Unterschiede noch größer. So nahm Tier 5 z.B. über das 10-fache an Gewicht zu wie Tier 1. Es läßt sich jedoch kein regelhafter Zusammenhang zwischen MAO-Aktivitätsveränderung und Futteraufnahme nachweisen. Sowohl Tier 1 und 4, die sehr gering an Gewicht zunahmen (5,5 g bzw. 4,9 g), als auch Tier 5 (Gewichtszunahme 37,9 g) zeigen unterschiedliche MAO-Aktivitäten in den einzelnen Organen. (Abb.3)

Die Einzelwerte in Abb.3 zeigen die individuellen Streuungen der MAO-Aktivität, wobei wiederum die des Gehirns am geringsten sind. In den Mittelwerten (Abb.4) bleibt die MAO-Aktivität im Gehirn unbeeinflusst, während alle anderen Organe eine Veränderung aufweisen. Im Herzen ist die MAO-Aktivität wieder signifikant erniedrigt (um 38 %). Während in Leber (um 28 %), Milz und Hoden wie im vorhergehenden Versuch niedrigere Werte gefunden wurden, verursacht der 10-tägige Dunkelaufenthalt in Lunge und Nieren eine Erhöhung der Enzymaktivität. Die Aktivität der Lunge steigt von $0,18 \pm 0,05$ auf $0,25 \pm 0,05$ und die der Nieren von $0,42 \pm 0,04$ auf $0,46 \pm 0,06$.

Ext.

1,2

1,1

1,0

0,9

0,8

0,7

0,6

0,5

0,4

0,3

0,2

0,1

- 13 -

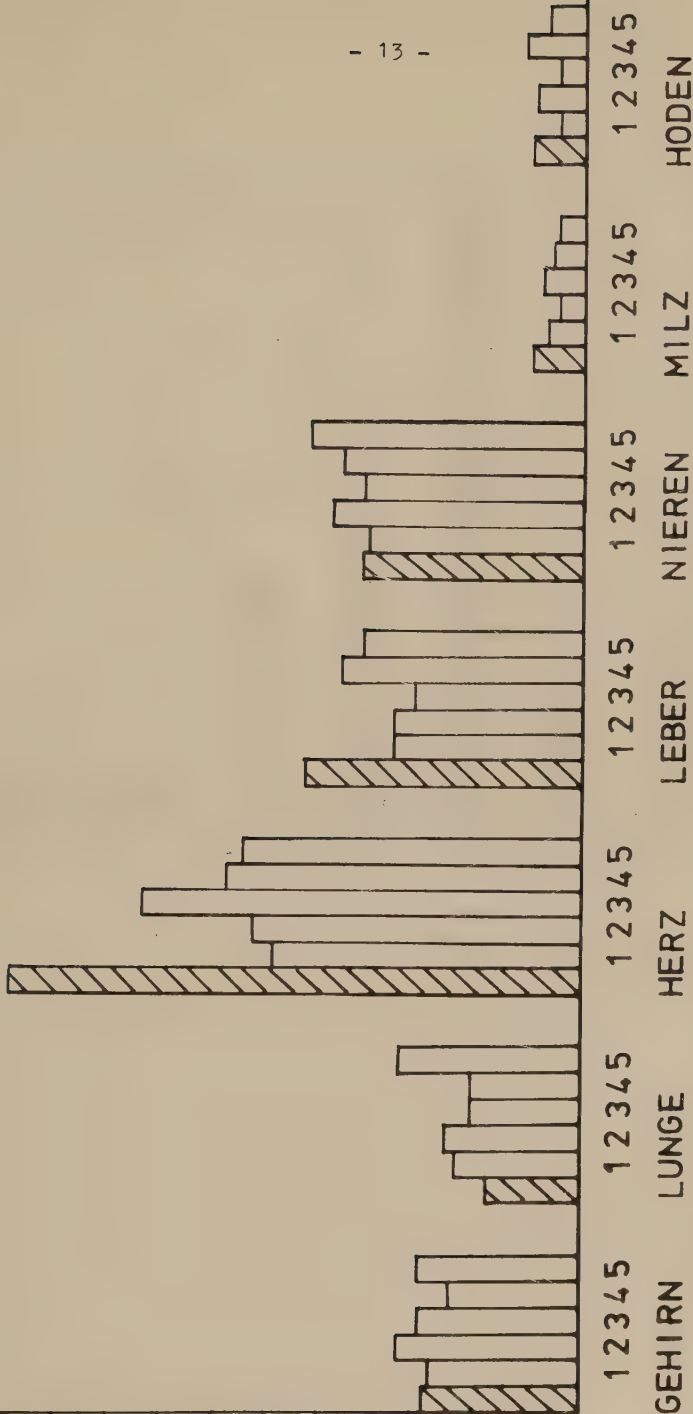


Abb. 3: Wirkung von 10 Tagen Dauerdunkel auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren (Säulen 1-5; schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

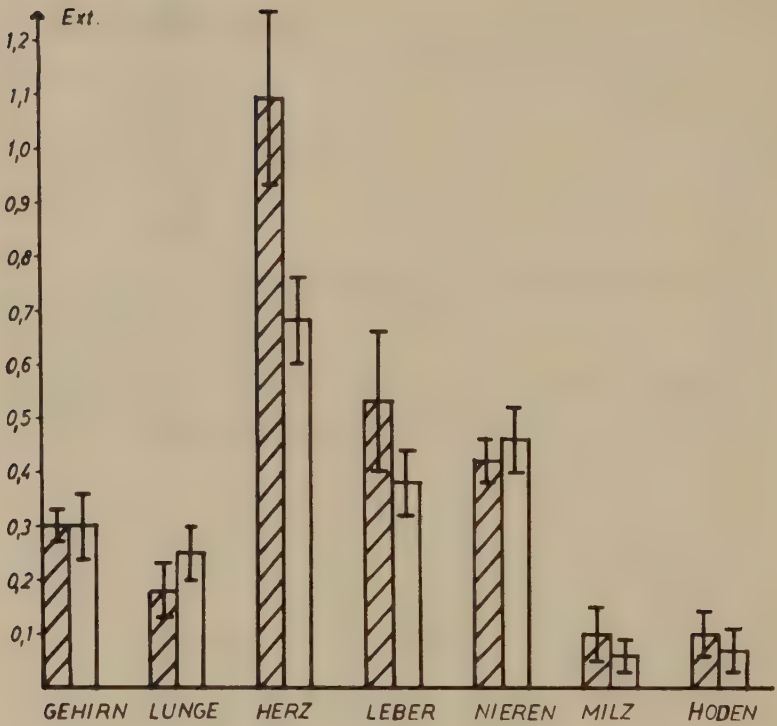


Abb.4: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.3

2. Ergebnisse der Dauerlichtversuche

a) 5 Tage Dauerlicht

Gewichtszu- bzw. -abnahme der Tiere während des Versuchs:

Tier 1: + 7,0 g

Tier 2: - 4,1 g

Tier 3: + 4,0 g

Tier 4: - 2,0 g

Tier 5: -12,0 g

Das ergibt eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 7,1 g.

Zeigte sich bei den Dauerdunkelversuchen immer eine, wenn auch unterschiedlich starke, Gewichtszunahme, so finden wir bei dieser Versuchsreihe bei 3 Tieren eine Gewichtsabnahme und bei 2 Tieren eine relativ geringe Zunahme. Zu erwähnen wäre auch noch die Tatsache, daß die Tiere während des 5 (und auch des 10) Tage und Nächte dauernden Versuchs nie in tiefem Schlaf angetroffen wurden und sofort nach Betreten des Raums hellwach waren. Ein Zusammenhang zwischen Gewichtsveränderungen und Schlafmangel scheint denkbar.

Wie sich die MAO-Aktivität verhält, zeigt Abb.5. Auffallend ist wieder, daß sich im Gehirn der Versuchstiere kaum etwas gegenüber dem Kontrollwert verändert. Die eigenartige Abnahme der MAO-Aktivität im Herzen der Tiere 1 bis 5 läßt sich in den anderen Organen nicht wiederfinden. Tier 5 weist allerdings in fast allen Organen die geringste Enzymaktivität auf. Es war auch das Tier mit der größten Gewichtsabnahme. (-12,0 g).

Die Mittelwerte in Abb.6 verdeutlichen die wiederum signifikante Aktivitätsminderung im Herzen (42 %). Gehirn und Lunge bleiben bei diesen Versuchen konstant. Nur die Leber zeigt eine leichte Steigerung der Aktivität von $0,53 \pm 0,13$ auf $0,65 \pm 0,13$ (23 %). Die Erhöhung in den Nieren ist schwächer, der Wert liegt bei $0,46 \pm 0,04$ gegenüber dem Kontrollwert von $0,42 \pm 0,04$. Die MAO-Aktivität in Milz und Hoden ist erniedrigt. Bei der Milz ergibt sich ein Mittelwert von $0,04 \pm 0,03$, da bei Tier 1 die Aktivität nicht meßbar und damit sehr gering war.

Ext.

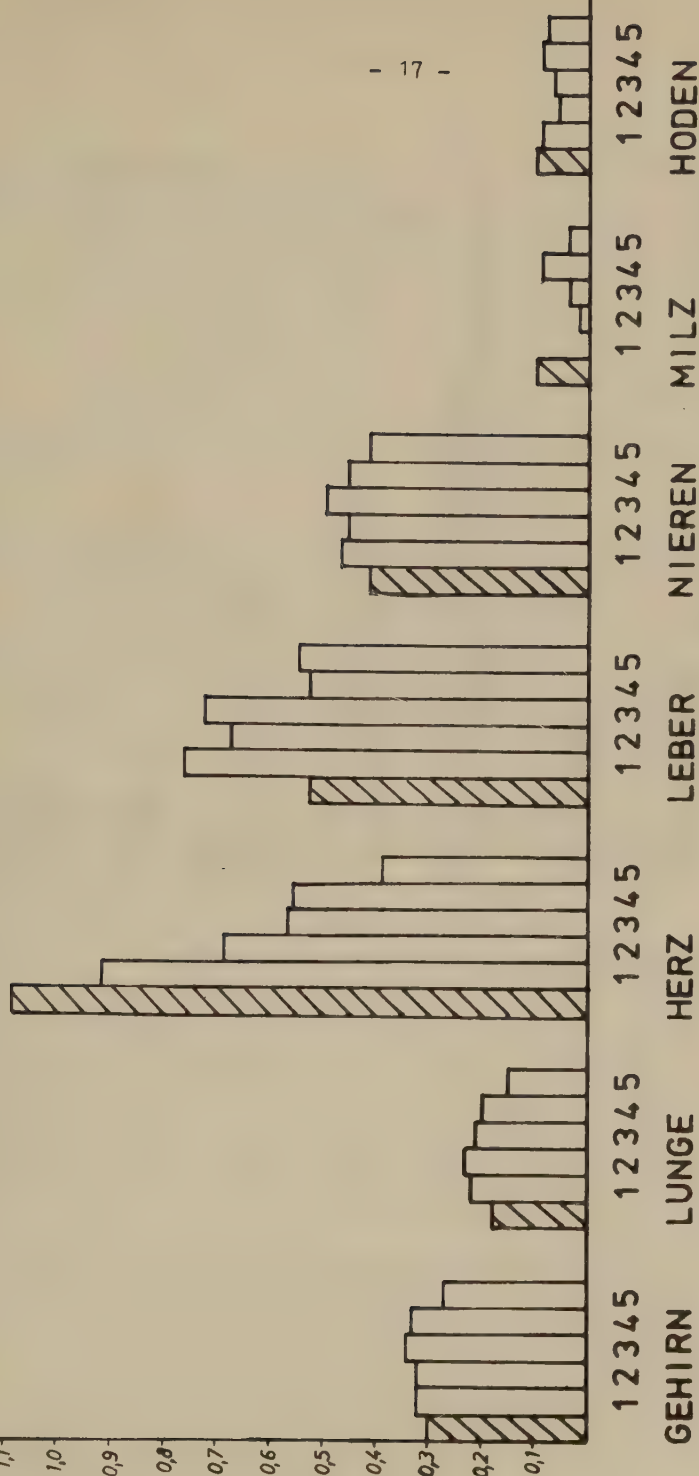


Abb.5: Wirkung von 5 Tagen Dauerlicht auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren (Säulen 1-5; schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

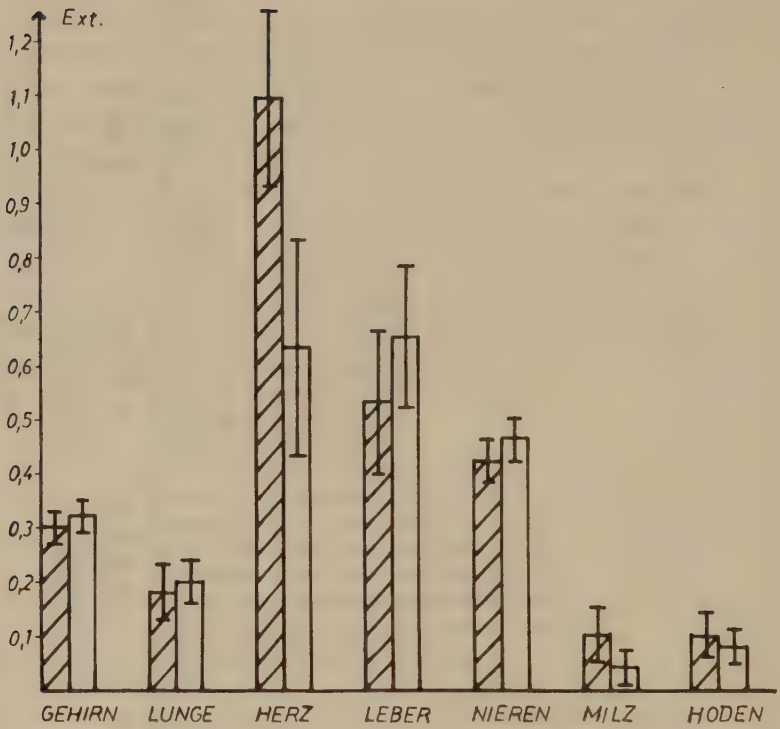


Abb.6: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.5

b) 10 Tage Dauerlicht

Gewichtszunahme der Tiere während des Versuchs:

Tier 1: +32,7 g

Tier 2: +22,5 g

Tier 3: +19,5 g

Tier 4: +20,1 g

Tier 5: +13,4 g

Das ergibt eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 21,7 g.

Nach 10 Tagen Dauerlicht scheint in Bezug auf die Gewichtsveränderung eine gewisse Adaption an den Stress vorhanden zu sein. War nach 5 Tagen Dauerlicht eine Gewichtszunahme von durchschnittlich 7,1 g festzustellen, so stieg nach 10 Tagen die Futteraufnahme und wir sehen eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 21,7 g.

Die Aktivitätswerte der MAO änderten sich dagegen beim 10-Tage-Versuch gegenüber dem 5-Tage-Versuch kaum. Aus Abb.7 ergibt sich beim Gehirn ein treppenförmiger Anstieg der MAO-Aktivität der Tiere 1 bis 5, der sich in genau gleicher Weise bei den anderen Organen nicht finden läßt, im Herzen (außer beim 4.) und in der Leber (außer beim 2. Tier) aber ebenfalls erkennbar ist. Außer in Lunge und Gehirn sehen wir wieder starke individuelle Unterschiede. Tier 1 und 2 weisen in der Leber geringe Enzymwerte auf, während Tier 5 in den Nieren die höchste MAO-Aktivität aller Tiere dieser Gruppe zeigt.

In Abb.8 sind wieder die Mittelwerte der 5 untersuchten Tiere zusammengefaßt. Die größte Änderung

in der MAO-Aktivität zeigt wie bei den vorhergehenden Versuchen das Herz, dessen Aktivität um 47 % gegenüber den Kontrolltieren vermindert ist. Der Leberwert ist um 15 % erniedrigt, was aber auf die niedrigen Einzelwerte von Tier 1 und 2 zurückzuführen ist. Gehirn, Lunge und Nieren blieben wie im vorhergehenden Versuch relativ konstant. Die niedrigen Werte von Milz und Hoden sind durch die geringen Enzymaktivitäten der Tiere 2, 3 und 4 bedingt.

Ext.

1,2

1,1

1,0

0,9

0,8

0,7

0,6

0,5

0,4

0,3

0,2

0,1

- 21 -

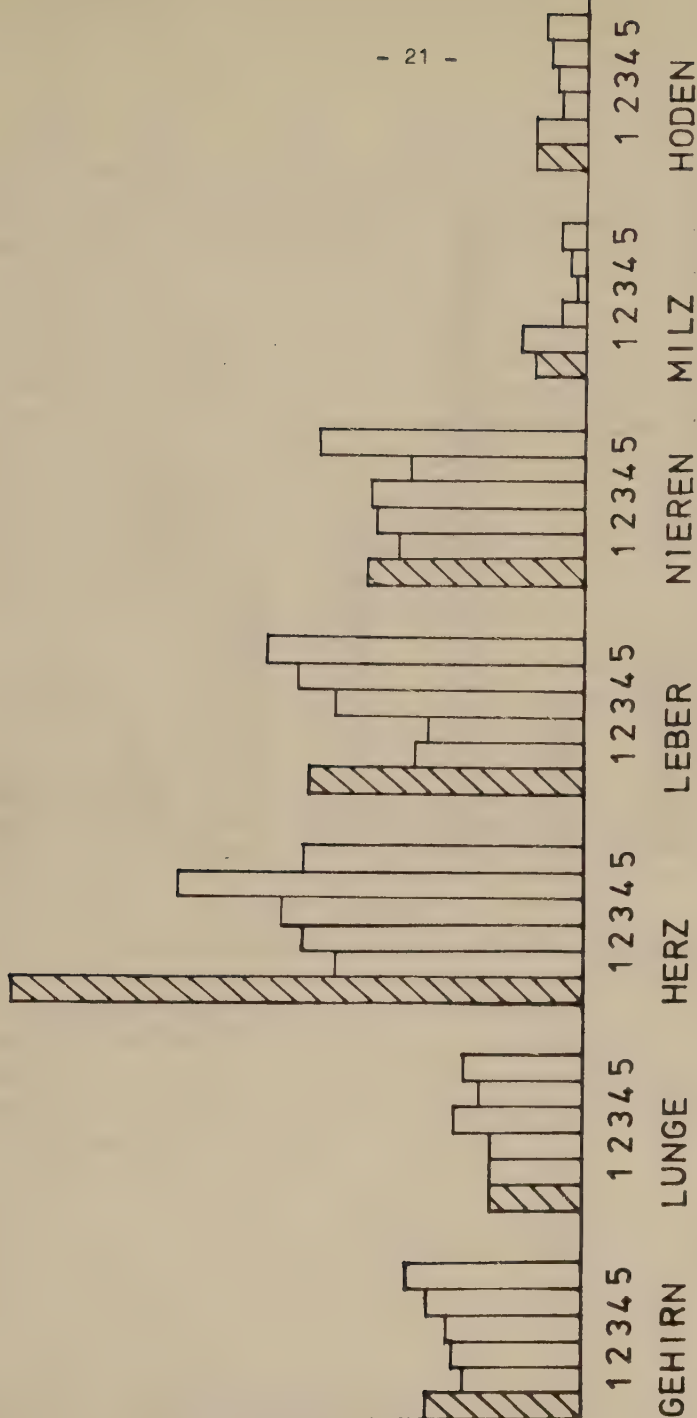


Abb.7: Wirkung von 10 Tagen Dauerlicht auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Organen bei 5 Tieren (Spalten 1-5; schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

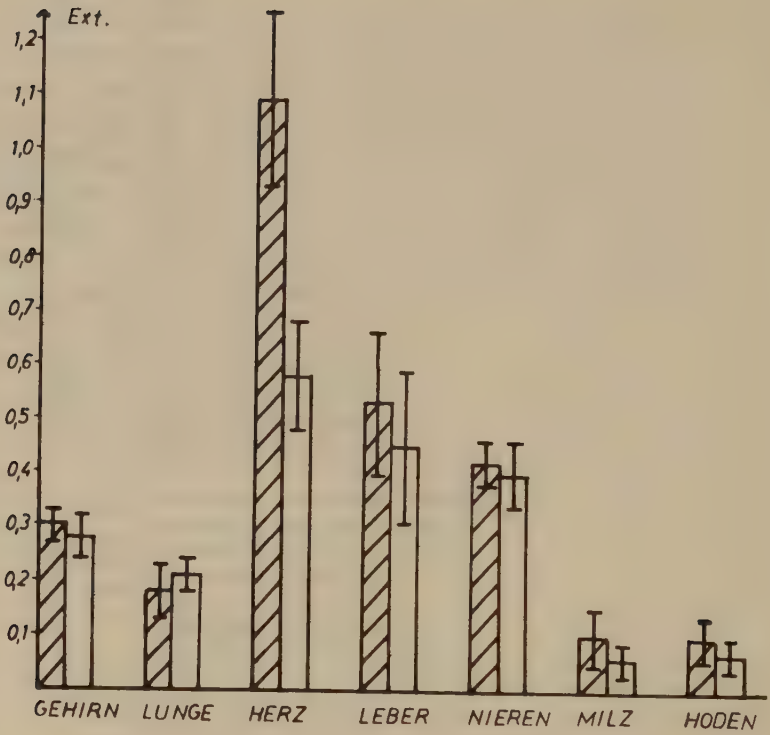


Abb.8: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.7

3. Ergebnisse der Wärmeversuche

Mit diesen Versuchen begannen wir das Leberhomogenat bei 0°C gekühlt zu halten (siehe Methodik 4.c).

Es wurde jeweils ein Tier eine bestimmte Zeit dem Wärmestress ausgesetzt. Da jedoch die Werte nicht stark von einander abweichen, mittelten wir sie und faßten sie in Abb.10 zusammen, um einen besseren Überblick zu erzielen.

In Abb.9 sind die MAO-Aktivitäten der einzelnen Tiere aufgeführt.

Bemerkenswert ist Tier 1, das die bisher geringste Aktivität im Herzen mit 0,23 aufweist. Die anderen Tiere zeigen am Herzen ebenso eine Verminderung der MAO-Aktivität - im Mittel um 51 % (Abb.10). Weiterhin fällt die konstante Erniedrigung der Leberwerte (gemittelt 30 %) und die ebenso konstante Erhöhung der Lungenwerte (gemittelt 56 %) auf. Das Gehirn bleibt wie immer unbeeinflusst, der Mittelwert ist gleich dem Kontrollwert. Die Enzymwerte der Nieren sind leicht, aber konstant, erhöht; im Mittelwert um 10 %. Milz und Hoden zeigen erniedrigte MAO-Werte. Der Mittelwert der Milz beträgt infolge der sehr geringen Enzymaktivitäten der Tiere 3 und 5 $0,07 \pm 0,03$ gegenüber $0,10 \pm 0,05$ der Kontrollen.

Ext.

1,2

1,1

1,0

0,9

0,8

0,7

0,6

0,5

0,4

0,3

0,2

0,1

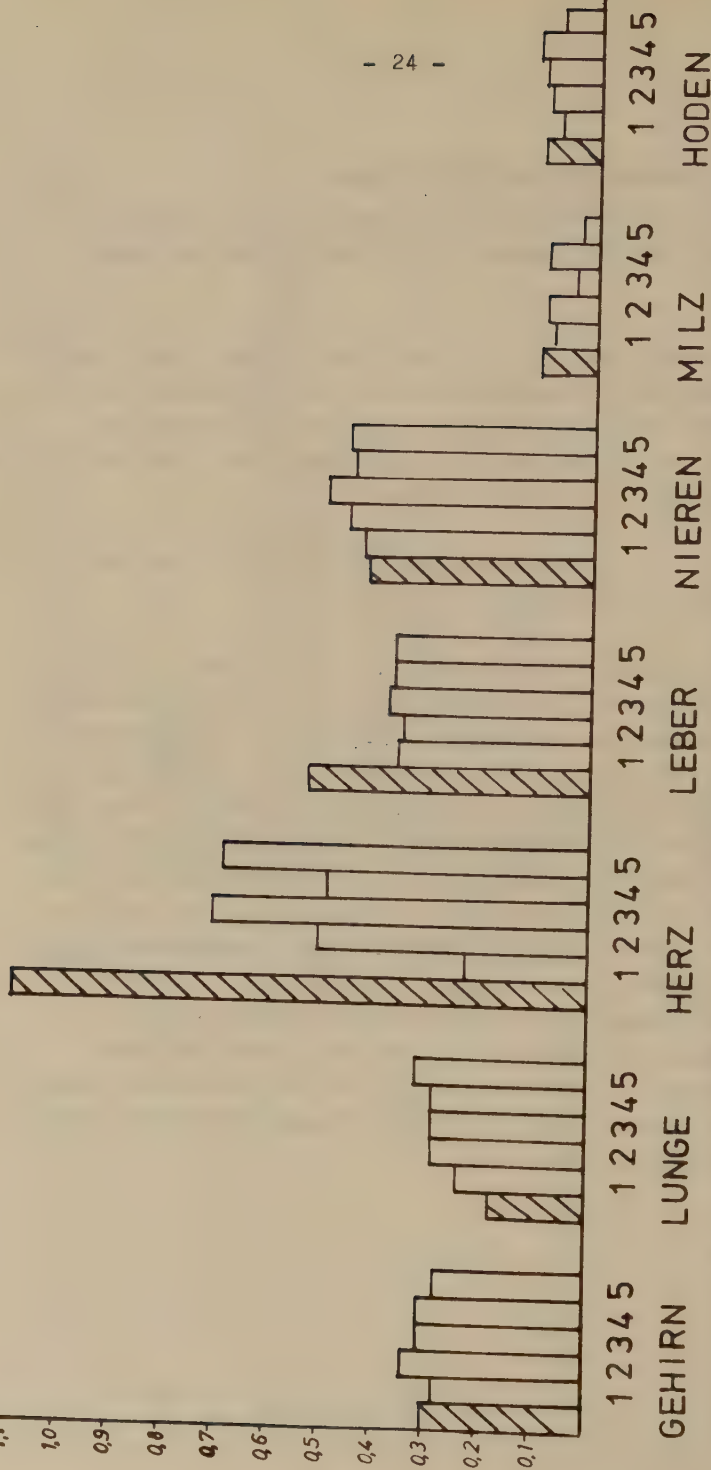


Abb. 9: Wirkung von 40°C Wärme auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren

(1 = 1 Tier 1 Std. Wärme von 40°C, 2 = 1 Tier 2 Std. Wärme von 40°C, 3 = 1 Tier 3 Std. Wärme von 40°C, 4 = 1 Tier 4 Std. Wärme von 40°C, 5 = 1 Tier 5 Std. Wärme von 40°C; schraffiert =

Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

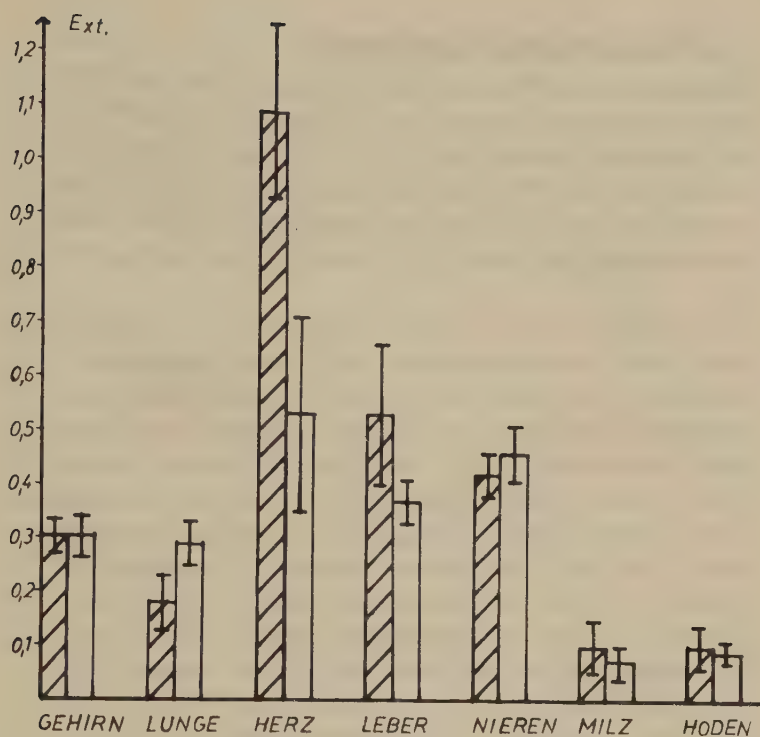


Abb.10: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.9

4. Ergebnisse der Kälteversuche

Genauso wie bei den Wärmeversuchen wurde hier nur jeweils ein Tier eine bestimmte Zeit dem Kältestress ausgesetzt. Da die Enzymaktivitäten bei Zeiten von 16 bis 25 Stunden eng beieinander liegen, mittelten wir auch hier und stellten die Werte graphisch nur als Durchschnittswerte dar.

Wie sich aus Abb.11 ergibt, streuten die Aktivitäten der Tiere interindividuell wie in den einzelnen Organen sehr stark. Zum ersten Mal schwanken die MAO-Aktivitäten im Gehirn von 0,29 bis 0,41 gegenüber dem Kontrollwert von 0,30. Beim Herz fallen Tier 2 und 3, die 18 bzw. 20 Stunden dem Kältestress ausgesetzt waren, mit sehr hohen Extinktionswerten von 0,97 bzw. 1,04 aus der Reihe. Die anderen Tiere (1, 4 und 5) haben niedrigere Werte (von 0,46 bis 0,57). Auffallend ist Tier 5 (25 Stunden Kältestress), das in Lunge und Hoden doppelt so hohe Aktivitäten wie die Kontrolltiere zeigt und in Gehirn und Leber die höchste MAO-Aktivität von allen Tieren dieser Versuchsreihe aufweist.

Auch aus Abb.11 läßt sich kein regelhafter, linearer Zusammenhang zwischen der Dauer der Stresszeit und den MAO-Aktivitätsänderungen erkennen.

Betrachtet man nun die Mittelwerte (Abb.12), zeigt sich keine signifikante Veränderung der MAO-Aktivitäten. Den größten Unterschied zeigt das Herz. Die Aktivität ist hier von $1,09 \pm 0,16$ auf $0,71 \pm 0,24$ (35 %) abgesunken. Im Gehirn ist sie dagegen zum ersten Mal erhöht, und zwar von $0,30 \pm 0,03$ auf $0,34 \pm 0,06$ (13 %). Kälte ist bis jetzt die einzige

Stressart, die eine nennenswerte MAO-Aktivitätsveränderung im Gehirn hervorgerufen hat. Die Lungen und Hoden zeigen ebenfalls eine Erhöhung der MAO-Aktivität, die aber durch den extrem hohen Wert von Tier 5 bedingt ist. Während die Nieren keine Veränderung zeigen, ist die Aktivität der Leber um 25 % des Kontrollwertes erniedrigt.

Ext.

1,2

1,1

1,0

0,9

0,8

0,7

0,6

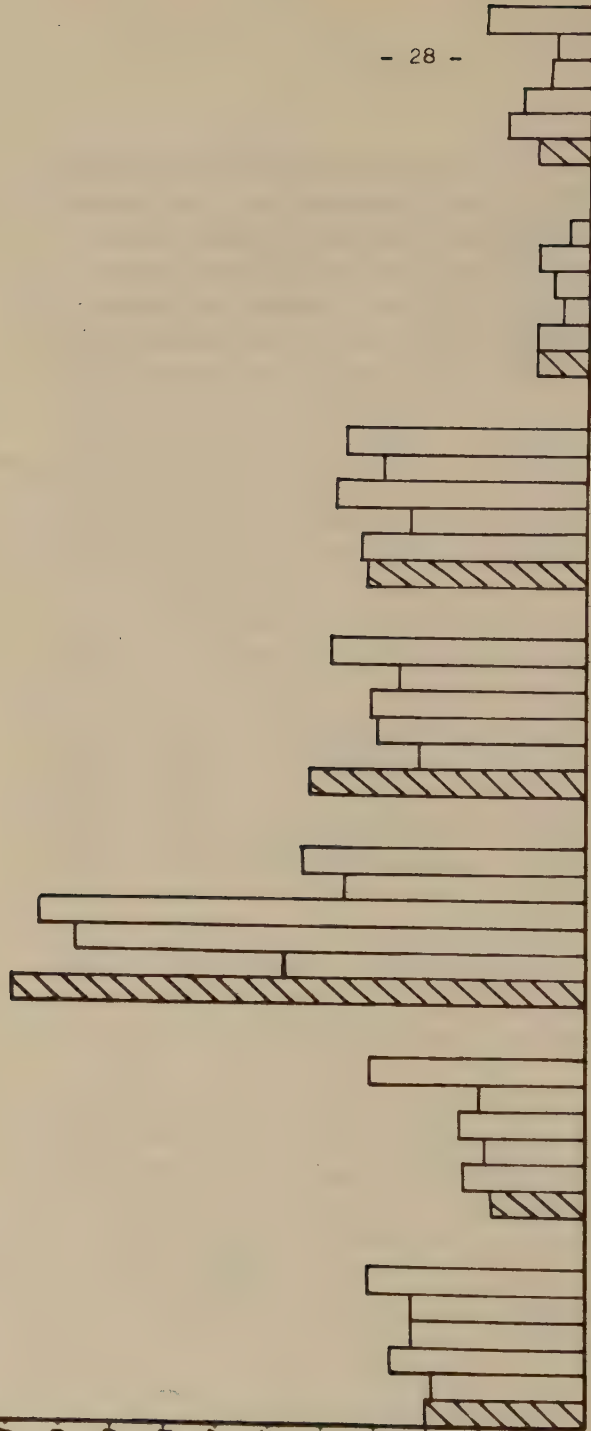
0,5

0,4

0,3

0,2

0,1



12345 12345 12345 12345 12345 12345

GEHIRN LUNGE HERZ LEBER NIEREN MILZ HODEN

Abb. 11: Wirkung von 5°C Kälte auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren (1 = 1 Tier 16 Std. Kälte von 5°C, 2 = 1 Tier 18 Std. Kälte von 5°C, 3 = 1 Tier 20 Std. Kälte von 5°C, 4 = 1 Tier 21 Std. Kälte von 5°C, 5 = 1 Tier 25 Std. Kälte von 5°C; schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

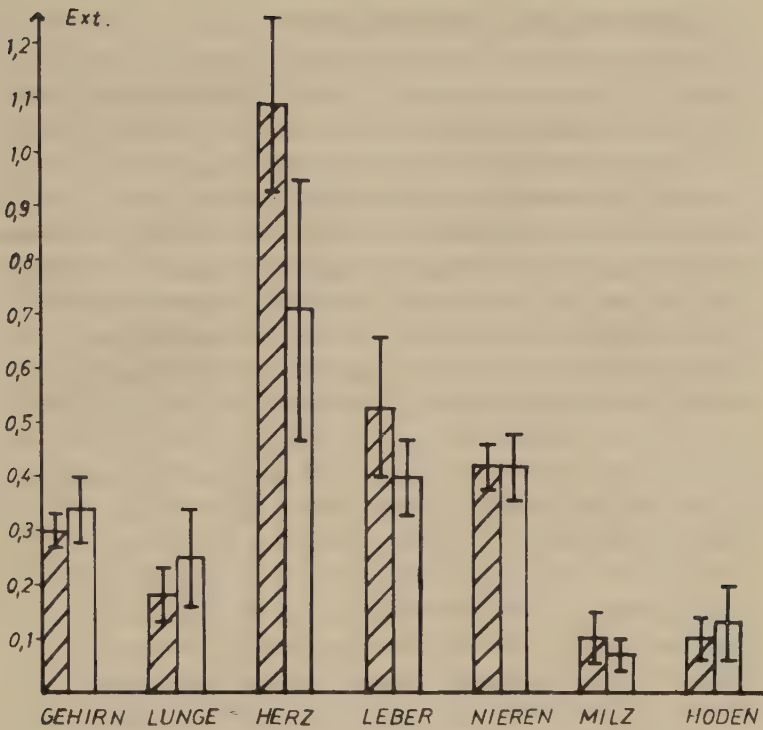


Abb.12: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.11

5. Ergebnisse der Schwimmversuche

In diese Versuche wurden 7 Tiere einbezogen. Die Tiere 1, 2 und 3 schwammen jeweils eine Stunde, Tier 4 und 5 15 Minuten mit 50 g Ballast und Tier 6 und 7 30 Minuten mit 50 g Ballast. Diese Versuchsanordnung wurde gewählt, weil die 3 Tiere, die 1 Stunde ohne Ballast dem Schwimmstress ausgesetzt waren, diesen ohne größere Erschöpfung überstanden, während Tier 5, das 15 Minuten mit Ballast schwamm, starke Erschöpfungserscheinungen aufwies. Tier 4, 6 und 7 brachten die Schwimmprobe ohne größere Anzeichen einer physischen Ermüdung hinter sich.

Diese individuellen Unterschiede machen sich auch in den Enzymaktivitäten bemerkbar. Betrachtet man Abb.13, so fällt auf, daß die MAO-Aktivitäten im Gehirn hier nicht sehr konstant sind. Tier 1, 2 und 3, die 1 Stunde schwammen, weisen erhöhte Enzymwerte auf, während die der anderen Tiere unter dem Kontrollwert liegen. Ebenso sind die stark unterschiedlichen Werte in Herz und Leber bemerkenswert. Die MAO-Aktivität steigt im Herz der Tiere 1 bis 3, während sie in der Leber von Tier 1 nach Tier 3 abfällt. Tier 5, das starke körperliche Erschöpfung zeigte, weicht insofern von den anderen Tieren ab, als die MAO in der Leber mit 0,76 eine unverhältnismäßig hohe Aktivität zeigt und in Herz und Lunge den geringsten Wert aufweist.

Die Mittelwerte aus dieser Versuchsreihe, die in 3 Gruppen in Abb.14, 15 und 16 dargestellt sind, demonstrieren alle die schon bekannte signifikante Erniedrigung der Herzaktivität und zwar im Fall von Tier 1, 2 und 3 (Abb.14) um 42 %, bei Tier 4 und 5 (Abb.15) um 40 % und bei Tier 6 und 7 (Abb.16) um 29 %. Ferner sind die Aktivitäten in den Nieren

in allen 3 Gruppen erhöht, in der 1. und 3. Gruppe sogar signifikant. In Prozentzahlen ausgedrückt macht die Erhöhung in Abb. 14 21 %, in Abb.15 10 % und in Abb.16 28 % aus. Auch die Aktivität der Lungen ist bei allen Tieren erhöht. In der Leber ergibt sich keine Regelmäßigkeit: während die Werte in der 1. Gruppe von Tier 1, 2 und 3 um 21 % und in der 3. Gruppe von Tier 6 und 7 ebenfalls um 30 % vermindert sind, erhöhte sich die MAO-Aktivität in der 2. Gruppe von Tier 4 und 5 um 11 %. Die geringsten Veränderungen von allen Organen sind wiederum in den Gehirnen der Tiere zu finden: Gruppe 1: (Tier 1, 2 und 3) +13 %; Gruppe 2: (Tier 4 und 5) -3 %; Gruppe 3: (Tier 6 und 7) -13 %.

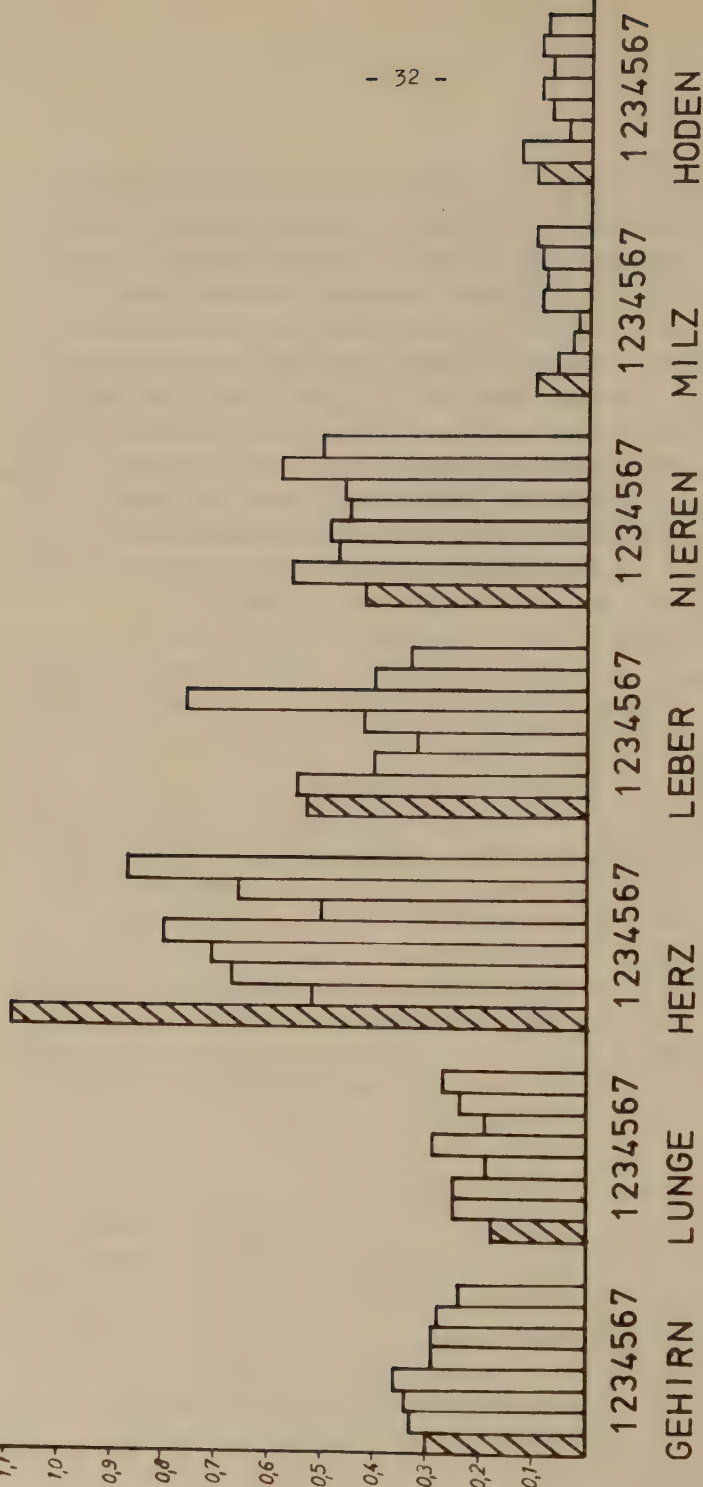


Abb. 13: Wirkung von Schwimmstress auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Pattenorganen bei 7 Tieren

(1 = 1 Tier 1 Std. schwimmen, 2 = 1 Tier 1 Std. schwimmen, 3 = 1 Tier 1 Std. schwimmen, 4 = 1 Tier 15 Minuten schwimmen mit 50g Ballast, 5 = 1 Tier 15 Minuten schwimmen mit 50g Ballast, 6 = 1 Tier 30 Minuten schwimmen mit 50g Ballast, 7 = 1 Tier 30 Minuten schwimmen mit 50g Ballast; geschaffert Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

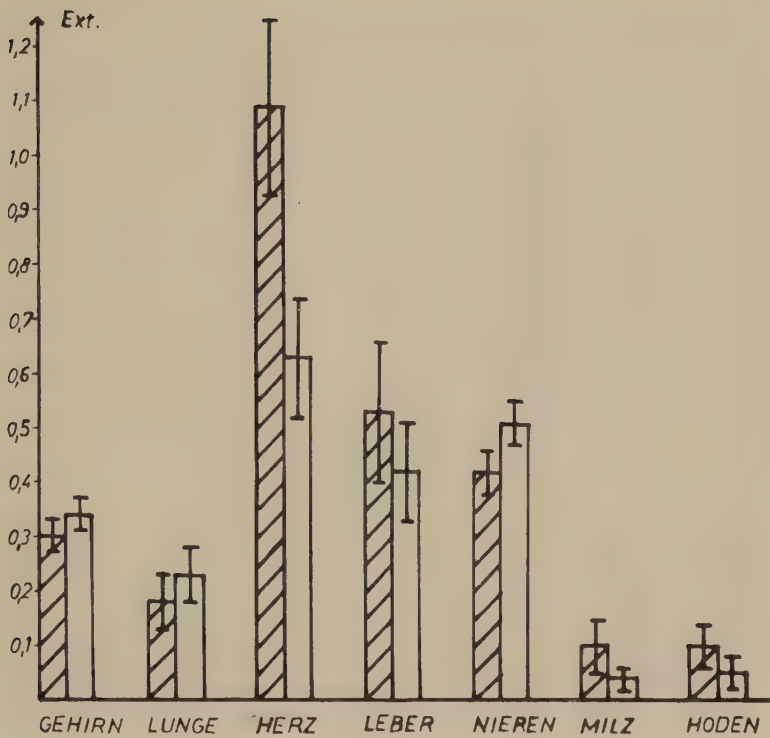


Abb.14: Mittelwerte der Tiere 1, 2 und 3
(1 Std. Schwimmen) aus Abb.13

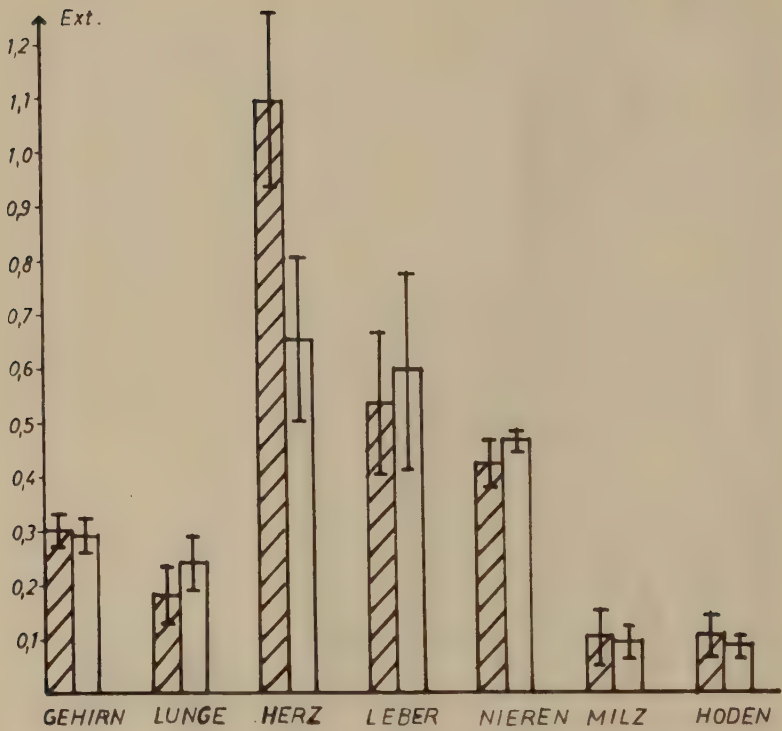


Abb.15: Mittelwerte der Tiere 4 und 5
(15 Min. Schwimmen mit 50 g Ballast)
aus Abb.13

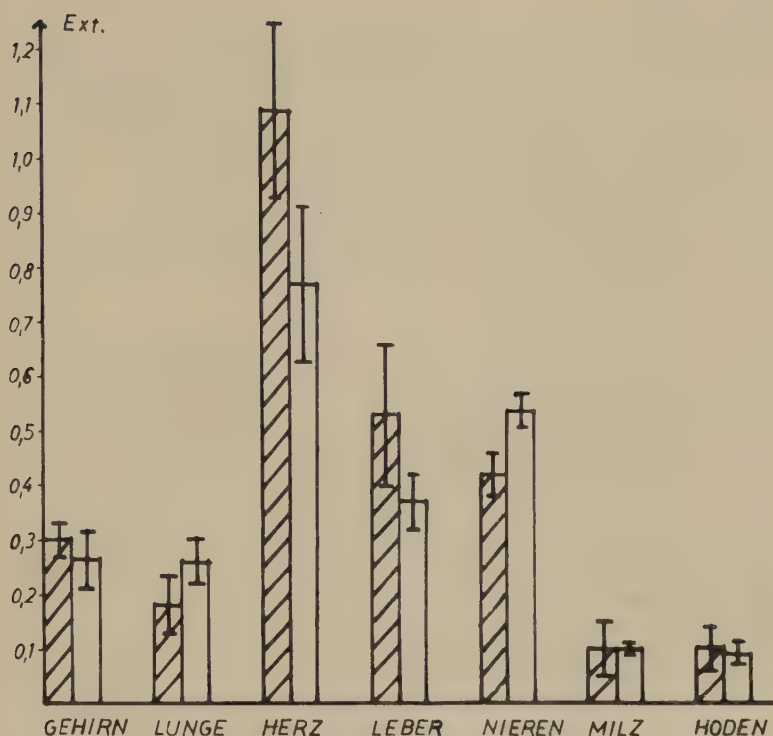


Abb.16: Mittelwerte der Tiere 6 und 7
(30 Min. Schwimmen mit 50 g Ballast)
aus Abb.13

6. Ergebnisse der Immobilisationsversuche

Bei dieser Stressart stellten wir nach Untersuchung der Mägen in jedem Tier eine größere Anzahl von Stressulcera fest - ein Befund, der auch durch andere Autoren bestätigt wird (LORENZ, REIMANN u.a.). Wie sich die MAO-Aktivität bei dieser Form von Stress in den 7 Organen der Versuchstiere verhält, zeigen uns Abb.17 und Abb.18.

Die Enzymaktivitäten im Gehirn sind größeren Schwankungen unterworfen. So weicht Tier 4 mit 0,39 stark von den anderen Versuchstieren ab. Im Mittelwert (Abb.18) ergibt sich jedoch der gleiche Wert wie bei den Kontrolltieren, sodaß wieder einmal das Gehirn die größte Konstanz der MAO-Aktivität beweist. Auffallend ist die Milz, die eine signifikante Erhöhung um 100 % aufweist. Ebenso signifikant verändert sind wiederum die Herzen der Tiere. Mit $0,80 \pm 0,11$ gegenüber dem Kontrollwert von $1,09 \pm 0,16$ ist die gefundene MAO-Aktivität immer noch um 27 % erniedrigt. Die Aktivität der Lungen ist wieder um 44 % erhöht, während die Aktivität der Leber um 28 % und in den Nieren um 17 % erniedrigt ist.

Ext.

1,2

1,1

1,0

0,9

0,8

0,7

0,6

0,5

0,4

0,3

0,2

0,1

- 37 -

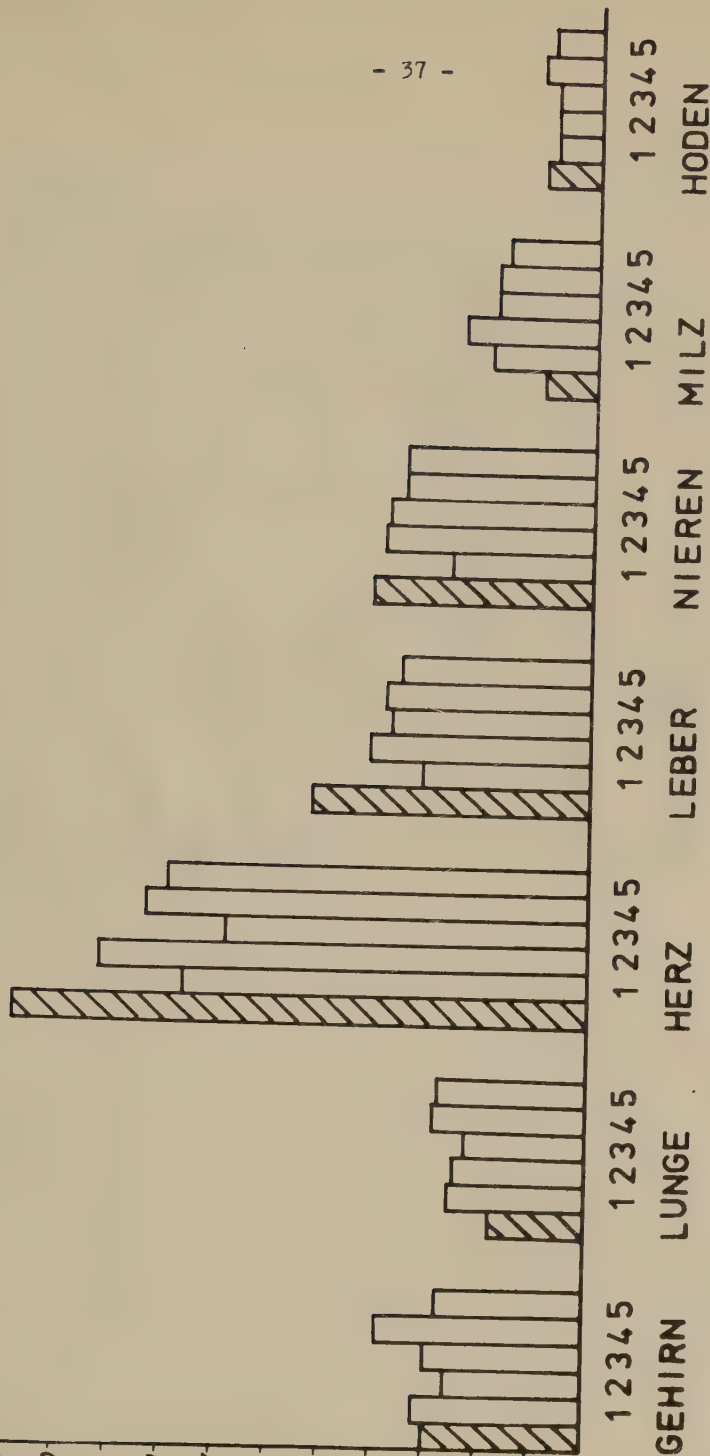


Abb. 17: Wirkung von 24 Stunden Immobilisation auf die MAO-Aktivität in 7 verschiedenen Rattenorganen bei 5 Tieren (Säulen 1-5; Schraffiert = Mittelwert aus 6 unbehandelten, vergleichbaren Kontrolltieren)

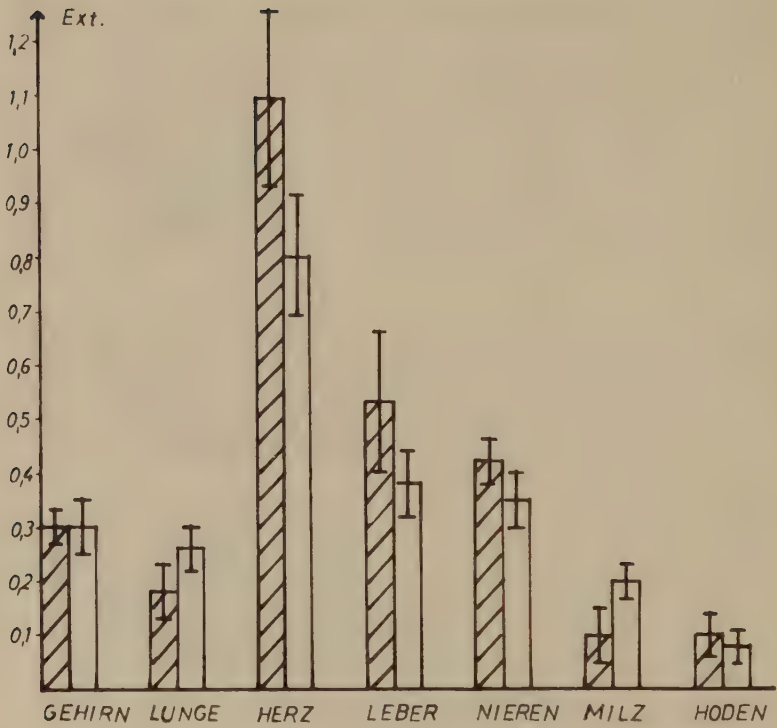


Abb.18: Mittelwerte der 5 Tiere aus Abb.15

D. Diskussion

1. Versuchsbedingungen und Methodik

Wie schon in Kapitel Material und Methodik erwähnt, untersuchten wir nur Tiere männlichen Geschlechts. Damit wollten wir geschlechtsspezifische Unterschiede in der MAO-Aktivität, vor allem durch Ausschalten des Oestruszyklus, vermeiden (LEMAY und BERLINGUET, 1967). Um auch einen Einfluß des Alters auf die MAO-Aktivität, den PRANGE, WHITE, LIPTON und KINGKEAD, 1968 und SCHABER, 1974 festgestellt haben, möglichst gering zu halten, bestellten wir immer eine kleine Anzahl von Tieren im Alter von 10 Wochen, sodaß die untersuchten Ratten nie älter als 15 Wochen waren. Auch eine Lagerung der entnommenen Organe wurde vermieden, indem sie sofort nach der Sektion untersucht wurden. Somit konnte keine Veränderung der MAO-Aktivität auftreten.

2. Adaption an den Stress

Wie SELYE in seinen Untersuchungen über das Adaptionssyndrom festgestellt hat, ist die Antwort auf einen Stressor dreiphasig: Alarmreaktion, Stadium des Widerstandes und Stadium der Erschöpfung.

Während dieser Phasen bleiben die körperlichen Reaktionen auf einen gleichbleibend einwirkenden Stressor nicht immer gleich. Wirkt dieser Stressor längere Zeit, so treten im Stadium des Widerstandes Adaptionsvorgänge ein, d.h. der Körper gewöhnt sich ganz allmählich an diesen Zustand. Erst wenn der Stressor zu lange und zu kontinuierlich einwirkt, wird die Adaptionsfähigkeit zusammenbrechen, und mit dem Stadium der Erschöpfung tritt der Tod ein.

Um eventuelle Steigerungen oder Verminderungen der MAO-Aktivität zu erfassen, wählten wir bei den Dauerdunkel- bzw. Dauerlichtversuchen 5 bzw. 10 Tage und Nächte als Stresszeit. Die Zeitdauer bei den Kälte-, Wärme- und Schwimmversuchen war willkürlich gewählt; bei den Wärme- und Schwimmversuchen ergab sich durch die körperliche Leistungskraft der Tiere eine natürliche Grenze. Die Zeitdauer von 24 Stunden bei den Immobilisationsversuchen wählten wir, weil nach persönlicher Mitteilung von REIMANN die Stressintensität (gemessen an der Zahl der Magenulcera) nach dieser Zeitspanne am größten war.

3. Unterschiedliche Stressarten

In der Literatur sind alle möglichen Arten von Stress beschrieben worden. Alle scheinen einen Einfluß auf den Organismus der Versuchstiere zu haben. Die bei unseren Untersuchungen durchgeführten Dauerlicht- und Dauerdunkelversuche können als psychophysischer Stress aufgefaßt werden, da der gewohnte Tages-Nachtrhythmus durchbrochen wurde. Eine unterschiedliche individuelle "Konstitution" bzw. "Disposition" zeigt sich unter anderem in den unterschiedlichen Gewichtsveränderungen während der Versuchszeit. Unter normalen Bedingungen beträgt bei einer Katze im Alter von 10 Wochen die durchschnittliche Gewichtszunahme in 5 Tagen 20 g und in 10 Tagen 40 g (LÖRCHER). Wir fanden jedoch nur bei 5 Tagen Dauerdunkel die entsprechende Gewichtszunahme von 20 g, während 10 Tagen Dauerdunkel betrug die durchschnittliche Zunahme nur 14,2 g pro Tier. 5 Tage Dauerlicht verursachten sogar eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 7,1 g, während bei 10 Tagen Lichteinfluß die Gewichtszunahme wieder auf den Mittelwert stieg.

Besonders die Immobilisationsversuche (Eingipsen) sind auch im Sinne eines psychischen Stress zu werten, da sie ein Angstgefühl hervorriefen. Die anderen Versuche (Hitze, Kälte und Schwimmen) dürfen vorwiegend als körperlicher Stress gelten, bei dem sich besonders während der Schwimmversuche oft eine starke physische Erschöpfung zeigte.

4. Beeinflussung der MAO-Aktivität durch Stressfaktoren

Bei allen Versuchen (bis auf den Kältestress) ergaben sich signifikante Verminderungen der MAO-Aktivität in den Herzen der Versuchstiere. Die Gehirn-Gesamthomogenate zeigten die geringsten Veränderungen gegenüber denen der Kontrolltiere. Die anderen Organe unterlagen größeren Schwankungen, die keinen Zusammenhang zwischen Zeitdauer und Stressart feststellen ließen. Bei den Schwimmversuchen fanden sich in den Nieren der Gruppe 1 und 3 signifikant erhöhte MAO-Werte. Für die Milz ergab sich das Gleiche bei den Immobilisationsversuchen.

Wie läßt sich diese Beeinflussung der MAO-Aktivität und die z.T. geringen Unterschiede zwischen den Versuchs- und Kontrolltieren erklären?

SELYE beschrieb die Antwort auf jede Art von Stressor als Trias: Involution der thymo-lymphatischen Gewebe, Auftreten von Magen-Darm-Ulcera und Nebennierenrindenhormonausschüttung. Der letztgenannte Faktor dürfte den eigentlichen Einfluß auf die MAO-Aktivität ausüben. Dafür sprechen auch Befunde anderer Autoren: PARVEZ und PARVEZ konnten bei adrenaletomierten Tieren durch Cortisonsubstitution eine Hemmung der MAO-Aktivität in den untersuchten Organen Gehirn, Herz und Leber feststellen. Cortison ist aber das Hormon, das bei der Stressantwort verstärkt

von der Nebennierenrinde ausgeschüttet wird. Der Mechanismus dieser Hemmung könnte in einer Wechselbeziehung zwischen Glucocorticoiden und dem Enzymprotein der Monoaminoxydase auf molekularer Basis bestehen.

Die Reaktion der MAO des Herzens weicht auch sonst häufig von der anderer Organe ab. CAESAR und COLLINS, die ebenfalls die MAO-Aktivität und den Katecholaminstoffwechsel in adrenaletomierten Ratten untersuchten, fanden im Herzen die größte Zunahme der MAO-Aktivität. Nach OEPEN, SCHNEIDER und Mitarbeitern verursacht der Einfluß von Mn^{++} und verschiedener Pharmaka wie Nitoman^R, Combinitrol^R und Athanol eine Abnahme der MAO-Aktivität im Herz der männlichen Ratte, während die Medikamente in den anderen Rattenorganen praktisch keinen Einfluß haben.

Andererseits läßt sich nach Befunden dieser Arbeitsgruppe in-vitro im Schweinegehirn bei Cortisonzusatz eine deutliche Abnahme der MAO-Aktivität feststellen. Wenn wir bei unseren Ratten im Gehirn keine oder nur sehr geringe Veränderungen der MAO-Aktivität fanden, mag das daran liegen, daß das gesamte Gehirn untersucht wurde und somit bestimmte Gehirnregionen, die eine stärker unterschiedliche Verteilung der MAO aufweisen, außer Acht gelassen wurden. Diese Ansicht vertritt auch BLISS (zitiert nach LADISICH), der bei starkem elektrischem Stress im Gesamtgehirn keinen Anstieg von Serotonin beobachten konnte. Die Ursache dafür, daß wir für die MAO-Aktivität im Gehirn keine nennenswerten Abweichungen fanden, könnte aber auch - von anderen Faktoren abgesehen - in zeitlichen Unterschieden liegen. SHINYO zeigte, daß nach Gravitationsschock

die MAO-Aktivität im Gehirn von Kaninchen sofort steigt, nach 4 Stunden abfällt und nach 12 Stunden wieder zu einem normalen Wert ansteigt.

Der Einfluß der Nebennierenrindenhormone auf die MAO-Aktivität ist sicher. Wichtig wäre es nun, zu klären, in welchen Regionen und an welchen Strukturen des Zentralnervensystems ein besonders starker Einfluß von Stressoren festzustellen ist - und zwar nicht nur auf die MAO-Aktivität. Und vor allem: Welche Stressoren wirken über welche Zwischenglieder? Auf die bei derartiger Fragestellung auftauchenden neurophysiologischen, neurochemischen, feinmorphologischen und allgemeinbiologischen Aspekte einzugehen ist aber nicht Aufgabe dieser Untersuchung.

E. Zusammenfassung

An 42 männlichen, 10-15 Wochen alten Ratten wurde der Einfluß von definierten Stressbedingungen auf die MAO-Aktivität in Homogenaten aus 7 Organen untersucht.

Dauerlicht, Dauerdunkel, Hitze, Kälte, Schwimmen und Immobilisation bewirkten in Gehirn, Lunge, Herz Leber, Nieren, Milz und Hoden unterschiedlich starke Veränderungen der MAO-Aktivität.

Der geringste Einfluß war bei allen Versuchen im Gehirn festzustellen. Die stärksten Veränderungen zeigten sich im Herzen. Bei allen Stressformen - mit Ausnahme der Kälte - zeigte sich eine signifikante Verminderung der MAO-Aktivität.

Die Wirkung auf die übrigen Organe wie: Lunge, Leber, Nieren, Milz und Hoden differierte stark innerhalb der verschiedenen Stressarten. So zeigten Leber und Hoden bei allen genannten Stressformen keine signifikanten Veränderungen, während die Lunge nur bei Wärmestress, die Nieren allein bei Schwimmstress und die Milz nur bei Immobilisation deutlich erhöhte MAO-Werte aufwiesen.

F. Literaturverzeichnis

- BARCHAS, J. D. and FREEDMAN, D. A.: Brain amines: response to physiological stress. Biochem. Pharmacol. 12: 1232 (1963)
- BLISS, E. L., THATCHER, W., AILION, J.: Relationship of stress to brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid. J. psychiat. res. 9: 71 (1972) (zit. n. LADISICH)
- CAESAR, P. M., COLLINS, G. G. S., SANDLER, M.: Catecholamine Metabolism and Monoamine Oxidase Activity in Adrenalectomized Rats. Biocnemical Rharmacol. 19, 921-926 (1970)
- KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1970)
- KUSCHINSKY, G. und H. LULLMANN: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1972)
- LADISICH, W.: pers. Mitteilung (1974)
- LEMAY, A. et L. BERLINGUET: Influence de la castration et des hormones sexuelles sur l'activité de la monoamine oxydase chez le rat. Rev. Can. Biol. 26, 295-303 (1967)
- LÖRCHER, K.: pers. Mitteilung (1974)
- LORENZ, W., REIMANN, H.-J. u.a.: Arbeitsberichte des Sonderforschungsbereiches Adaptation und Rehabilitation, Band I, 172-181, Marburg/L. (1974)
- OEPEN, H.: pers. Mitteilung (1974)

- PARVEZ, H. and PARVEZ, S.: The Regulation of Monoamine Oxidase Activity by Adrenal Cortical Steroids. *Acta Endocrin*: 73, 3:509-517. (1973)
- POPOV, N., V. ROSLER, CHR. THIEMANN und H. Matthes:
Eine empfindliche Methode zur Bestimmung der MAO-Aktivität im Gewebe durch Aldehydsemicarbazinmessung. *Acta Biol. med. germ.* 26, 239-245 (1971)
- PRANGE, A. J., J. E. WHITE, M. A. LIPTON and A. M. KINKEAD: Influence of age on Monoamine-Oxidase and Catecholamin-O-Methyltransferase in rat tissues. *Life Sci.* 6, 581-587 (1967)
- REIMANN, H. J.: pers. Mitteilung (1974)
- SCHABER, G.: Über die Altersabhängigkeit der Monoaminoxidase-Aktivität in einigen Organen der Ratte. Dissertation, Marburg (1974)
- SCHNEIDER, G.: pers. Mitteilung (1974)
- SELYE, H.: Einführung in die Lehre vom Adaptionssyndrom. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1953)
- SHINMYO, T.: Effects of Stress on MAO Activity in the Brain and the Ocular Tissues of Rabbits. Department of Ophthalmology, Osaka City University Medical School. Osaka-shi. 27 - (1365-1379)
- THIERRY, A. M., FEKETE, M., GLOWINSKI, J.: Effects of stress on the metabolism of noradrenaline, dopamine and serotonin (5 HT) in the central nervous system of the rat. (II) Modifications of serotonin metabolism. *Europ. J. Pharmacol.* 4: 384 (1968)

Herrn Prof. Dr. H. Oepen möchte ich meinen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und für seine hilfreiche Unterstützung.

Herrn Dr. G. Schneider danke ich besonders für seine Bemühungen um das Zustandekommen dieser Arbeit.

Ebenso danke ich Frau S. Urlaub und Herrn G. Saleh für die Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Lebenslauf

Am 21. Dezember 1948 wurde ich als drittes Kind des Kürschnermeisters August Feldmann und seiner Frau Berta, geb. Maier, in Schrobenhausen, Oberbayern, geboren.

Von 1954 bis 1959 besuchte ich die Volksschule und wechselte dann auf das math. nat. Gymnasium in Schrobenhausen über, wo ich 1968 das Abitur bestand.

Ab dem Wintersemester 1968 studierte ich an der Philipps-Universität in Marburg Zahnmedizin, wo ich auch mein Studium mit dem Staatsexamen im Dezember 1973 beendete.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren
Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Bernhardt, Dimroth, Engelhardt,
Goebell, Haan, Haberich, Hein, Hennis, Hensel,
Hering, Heuser, Hort, Janke, Karlson, Keil, Korb,
Kühnel, Niemeyer, Nörth, Petry, Pfütz, Rieken,
Rohen, Rosemann, Rupec, Schiff, Schmid, Schmidt,
Schmitz-Moormann, Schnell, Scriba, Seidel, Siefert,
Walcher.

